

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 756 580**

51 Int. Cl.:

**C07C 277/02** (2006.01)

**C07C 277/06** (2006.01)

**C07C 279/18** (2006.01)

**A61K 31/155** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.08.2016 PCT/EP2016/069033**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.02.2017 WO17025560**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.08.2016 E 16756641 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2019 EP 3334707**

54 Título: **Procedimiento para la preparación del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina**

30 Prioridad:

**11.08.2015 EP 15382424**

**11.08.2015 AR P150102582**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**27.04.2020**

73 Titular/es:

**CHEMO RESEARCH, S.L. (100.0%)  
C/ Manuel Pombo Angulo 28, 3ª y 4ª planta  
28050 Madrid, ES**

72 Inventor/es:

**AMATO, JOSÉ**

74 Agente/Representante:

**CONTRERAS PÉREZ, Yahel**

ES 2 756 580 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la preparación del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina

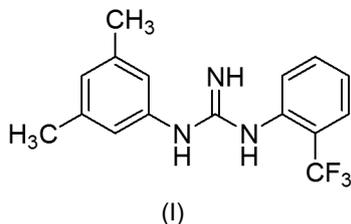
5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I). También se refiere a un procedimiento para la preparación de una forma sólida cristalina del compuesto de fórmula (I), en particular, a una forma sólida cristalina A, y a una composición farmacéutica que las contiene. También se refiere a la forma sólida cristalina del compuesto de fórmula (I) para su uso como un medicamento, en particular para el tratamiento de una condición mediada por proteínas celulares Rho-  
10 GTPasas.

## ESTADO DE LA TÉCNICA

Las GTPasas de la familia Rho son interruptores moleculares que controlan rutas de señalización que regulan la reorganización del citoesqueleto de actina, la expresión génica, la progresión del ciclo celular, la supervivencia celular y otros procesos celulares. Entre otras funciones, participan en la regulación de la división celular y del ciclo celular, estando además implicadas en la secreción, la endocitosis, la fagocitosis, el tráfico de las membranas y la apoptosis. Las proteínas de la familia Rho constituyen una de las tres ramas principales de la superfamilia Ras. Las proteínas Rho comparten una identidad de aminoácidos de aproximadamente el 30 por ciento con las proteínas Ras. Hasta el  
15 momento se han identificado al menos 23 proteínas de la familia Rho de mamíferos, incluidas RhoA, Rac1 y Cdc42.

Las células tumorales, además de presentar una desregulación de la proliferación, presentan alteraciones de las características morfológicas y, en caso de metástasis, adquieren la capacidad de atravesar barreras tisulares. Las Rho-GTPasas desempeñan un papel importante en el control de la movilidad celular y de la morfología. Un compuesto  
25 capaz de inhibir específicamente la actividad de las Rho-GTPasas ofrece una alternativa específica en el tratamiento del cáncer.

El compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina representado por la fórmula estructural (I) es un inhibidor selectivo y potente de las proteínas celulares Rho-GTPasas:  
30



35 En particular, el compuesto de fórmula (I) se puede usar para inhibir la proteína celular Rac1-GTPasa relacionada con Rho. En consecuencia, el compuesto de fórmula (I) como inhibidor de la proteína celular Rac1-GTPasa relacionada con Rho se puede usar para tratar enfermedades mediadas por proteínas celulares Rac1 de mamíferos, en particular, para el tratamiento de cualquier condición mediada por proteínas celulares Rho-GTPasas, tales como las proteínas celulares Rac1.  
40

La preparación y el uso terapéutico del compuesto de fórmula (I) se ha descrito en la patente europea número EP2766342.

EP2766342 describe un procedimiento para la preparación del compuesto 25 (véase el ejemplo 1), que corresponde al compuesto de fórmula (I) de la presente invención. El procedimiento descrito en EP2766342 comprende hacer reaccionar cantidades equimolares de una solución de clorhidrato de 3,5-dimetilanilina y N-(2-trifluorometil)fenil)cianamida en etanol absoluto a una temperatura de reflujo de 15 h. Se purificó el crudo del compuesto de fórmula (I) por cromatografía en columna con una mezcla de hexano y acetato de etilo en presencia de trietilamina. Se obtuvo el compuesto de fórmula (I) purificado como un compuesto sólido blanco que presenta un punto de fusión de 127 °C. Sin embargo, la patente europea EP2766342 no describe un procedimiento para preparar una forma sólida cristalina del compuesto de fórmula (I). Además, el uso de condiciones de reacción extremas durante un período de tiempo prolongado y el uso de técnicas de purificación que no son escalables, tales como la cromatografía, origina dificultades considerables para su escalado industrial.  
45  
50

55 Por otro lado, el polimorfismo es la propiedad de algunas moléculas de adoptar más de una forma cristalina en estado sólido. Una sola molécula puede dar lugar a una variedad de formas cristalinas (también llamadas "polimorfos") con

distintas propiedades físicas. La existencia y las propiedades físicas de diferentes formas cristalinas se pueden determinar por una variedad de técnicas, tales como la espectroscopia por difracción de rayos X, la calorimetría diferencial de barrido, la espectroscopia infrarroja y el punto de fusión. Las diferencias en las propiedades físicas de diferentes formas sólidas cristalinas son consecuencia de la orientación y las interacciones intermoleculares de moléculas adyacentes en la masa sólida. Así pues, los polimorfos son sólidos distintos que comparten la misma fórmula molecular, si bien tienen distintas propiedades físicas desfavorables y/o ventajosas en comparación con otras formas de la familia de polimorfos. La existencia y las propiedades físicas de los polimorfos son impredecibles.

Una de las propiedades físicas más importantes de un compuesto farmacéutico que puede formar polimorfos es su solubilidad en una solución acuosa, en particular, la solubilidad en los jugos gástricos de un paciente. Otras propiedades importantes están relacionadas con la estabilidad, la biodisponibilidad, la facilidad de formulación, la facilidad de administración, entre otras. Dado que algunas de las formas sólidas cristalinas son más adecuadas para un tipo de formulación y otras formas para otras formulaciones diferentes, el desarrollo de nuevas formas sólidas cristalinas, tales como, por ejemplo, formas sólidas cristalinas (es decir, polimorfos), permite mejorar las características de las formulaciones farmacéuticas que las comprenden. Además, en función de las indicaciones terapéuticas, puede ser preferida una u otra formulación farmacéutica.

Las mejoras/ventajas especialmente deseables de una forma sólida cristalina del compuesto de fórmula (I) incluirían: la mejora de las propiedades fisicoquímicas con el fin de facilitar su fabricación o su formulación; potenciar la absorción y/o la biodisponibilidad; que sean fáciles de obtener con propiedades fisicoquímicas más constantes; permitir más flexibilidad durante la formulación o facilitar su formulación; que tengan mejores propiedades de dispensación, lo que permite mejores tasas de dispersión, en especial, si se dispersan en un entorno fisiológico acuoso, o reducir la higroscopicidad; mejorar la estabilidad; y permitir nuevas vías de administración.

Del modo más deseable, la nueva forma sólida cristalina debería combinar más de una o incluso la mayoría de estas ventajas.

Por tanto, existe la necesidad de desarrollar un procedimiento más barato y que sea más fácilmente industrializable para la preparación del compuesto de fórmula (I), en particular para la preparación de una nueva forma sólida cristalina del compuesto de fórmula (I) adecuada para su uso en la industria farmacéutica y, en particular, para el tratamiento de una condición mediada por proteínas celulares Rho-GTPasas.

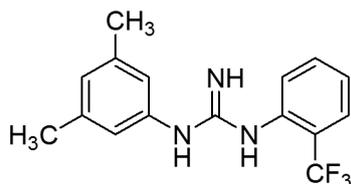
## RESUMEN DE LA INVENCION

Los inventores han descubierto un nuevo procedimiento para la preparación del compuesto de fórmula (I) que comprende hacer reaccionar una sal de un compuesto anilina de fórmula (II) con un compuesto cianamida de fórmula (III) a temperatura suave y durante un período de tiempo corto. Es ventajoso porque el procedimiento comprende el uso de materiales de partida disponibles comercialmente o que se pueden preparar fácilmente, lo que permite una adaptación más fácil a la escala industrial.

Además, el procedimiento de la invención se lleva a cabo en condiciones de reacción que permiten obtener un compuesto de fórmula (I) en forma bruta con un perfil de impurezas que es fácilmente purificable por re cristalización. En particular, el procedimiento de la invención permite obtener el crudo del compuesto de fórmula (I) en forma sólida cristalina.

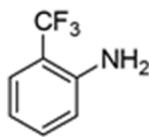
Adicionalmente, se puede obtener como una forma sólida cristalina A, tanto por cristalización en el medio de reacción como por re cristalización en condiciones específicas. Es ventajoso porque la forma sólida cristalina A del compuesto (I) tiene las propiedades físicas y químicas apropiadas para su uso en la industria farmacéutica.

Por tanto, el primer aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I).



(I)

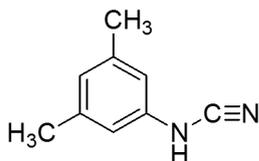
que comprende hacer reaccionar una sal de un compuesto de fórmula (II) o una mezcla de la sal del compuesto de fórmula (II) y un compuesto de fórmula (II)



(II)

con un compuesto cianamida de fórmula (III),

5



(III)

en presencia de un disolvente orgánico polar.

10

El segundo aspecto de la invención es una forma sólida cristalina A del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) que presenta un punto de fusión de 131,5 °C.

El tercer aspecto de la invención es una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectivo de una forma sólida cristalina A del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) de la presente invención, junto con uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

15

El cuarto aspecto de la invención es la forma sólida cristalina A del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) de la presente invención para su uso como medicamento.

20

El quinto aspecto de la invención es la forma sólida cristalina A del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) de la presente invención para su uso en el tratamiento de una condición mediada por proteínas celulares Rho-GTPasas.

25

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 muestra la curva de DSC de la forma sólida cristalina A del compuesto de fórmula (I) de la presente invención. El espectro expresa el flujo de calor (W/g) frente a la temperatura (°C).

La FIG. 2 muestra el espectro infrarrojo de la forma sólida cristalina A del compuesto de fórmula (I) de la presente invención. La curva expresa la transmitancia (T) frente al valor de la longitud de onda (cm<sup>-1</sup>).

La FIG. 3 muestra la curva de DSC de la forma sólida cristalina comparativa del compuesto de fórmula (I) conocida en el estado de la técnica. El espectro expresa el flujo de calor (W/g) frente a la temperatura (°C).

La FIG. 4 muestra el espectro infrarrojo de la forma sólida cristalina comparativa del compuesto de fórmula (I) conocida en el estado de la técnica. La curva expresa la transmitancia (T) frente al valor de la longitud de onda (cm<sup>-1</sup>).

35

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

A menos que se indique lo contrario, todos los términos que se usan en la presente solicitud se entenderán con su significado habitual conocido en la técnica. Otras definiciones más específicas para determinados términos que se usan en la presente solicitud se exponen a continuación y se pretende que se apliquen uniformemente en toda la descripción y las reivindicaciones, a menos que otra definición establecida expresamente proporcione una definición más amplia.

40

El término "temperatura ambiente" se refiere a una temperatura comprendida desde 20 °C hasta 25 °C.

Como se menciona anteriormente, un aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación del compuesto de fórmula (I). El procedimiento se lleva a cabo en condiciones tales que permiten obtener un compuesto de fórmula (I) en forma bruta cristalizada fácilmente purificable por recristalización.

50

En un modo de realización de la invención, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, el procedimiento comprende hacer reaccionar una sal

del compuesto anilina de fórmula (II) con un compuesto cianamida de fórmula (III) en presencia de un disolvente orgánico polar.

5 En una realización alternativa de la invención, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, el procedimiento comprende hacer reaccionar una mezcla del compuesto anilina de fórmula (II) y una sal del compuesto anilina de fórmula (II) con un compuesto cianamida de fórmula (III) en presencia de un disolvente orgánico polar.

10 En una realización de la invención, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, la sal del compuesto de fórmula (II) es una sal inorgánica; preferiblemente, una sal de halohidrato seleccionada del grupo que consiste en clorhidrato, bromhidrato y yodhidrato; más preferiblemente, la sal del compuesto de fórmula (II) es una sal clorhidrato.

15 En una realización de la invención, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, el disolvente orgánico polar se selecciona de entre un alcohol (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) y una mezcla de alcohol (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) y agua. El término "alcohol" se refiere a un hidrocarburo en el que se han reemplazado uno o más átomos de hidrógeno con uno o más grupos -OH. El hidrocarburo contiene el número de átomos de carbono especificado en la descripción o las reivindicaciones. El término alcohol incluye también compuestos glicólicos.

20 En una realización de la invención, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, el disolvente orgánico polar es un alcohol (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) seleccionado del grupo que consiste en etanol, 2-propanol (es decir, isopropanol) y n-propanol; preferiblemente, etanol; y, lo más preferiblemente, etanol absoluto.

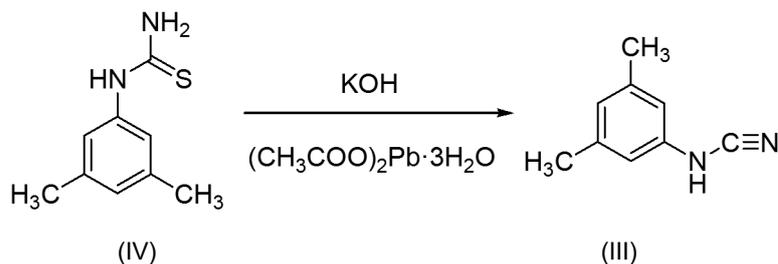
25 En una realización de la invención, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, el disolvente orgánico polar es una mezcla de alcohol (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) y agua, preferiblemente, etanol y agua. En una realización de la invención, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, el disolvente orgánico polar es una mezcla de etanol y agua, en donde la mezcla comprende el 83 % en volumen de etanol y el 17 % en volumen de agua. En el contexto de la invención, el término "% en volumen" se refiere al porcentaje de volumen de cada disolvente (es decir, etanol y agua) necesario para promover la preparación del compuesto de fórmula (I). El uso de una mezcla de alcohol (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) y agua como disolvente orgánico polar es ventajoso porque permite reducir el coste económico del procedimiento.

35 De forma ventajosa, en comparación con el procedimiento descrito en el estado de la técnica, el material de partida en combinación con las condiciones de reacción del procedimiento permite obtener el crudo de un compuesto de fórmula (I) con un perfil de impurezas apropiado para cristalizarlo fácilmente. A diferencia de lo descrito en el estado de la técnica, el crudo del compuesto de fórmula (I) de la presente invención tiene un perfil de impurezas que permite retirar las impurezas por recristalización. Además, el compuesto de fórmula (I) purificado está en forma cristalina, con un perfil de impurezas que cumple los requisitos obligatorios de la industria farmacéutica.

40 En una realización de la invención, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, el procedimiento de la invención se lleva a cabo a una temperatura comprendida desde 60°C hasta 75°C; preferiblemente, desde 65°C hasta 72°C. En una realización de la invención, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, el procedimiento se lleva a cabo a 70 °C.

50 Los materiales de partida (II) y (III) están disponibles comercialmente o se pueden preparar por cualquier procedimiento conocido en el estado de la técnica. En una realización, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, el procedimiento de la invención como se define anteriormente además comprende una etapa previa de reacción de un compuesto 3,5-dimetilfenil tiourea de fórmula (IV) en tales condiciones de reacción que dan lugar a un compuesto de fórmula (III), usando KOH y (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Pb·3H<sub>2</sub>O como se muestra en el siguiente esquema:

55



El material de partida (IV) también está disponible comercialmente o se puede preparar por cualquier procedimiento conocido en el estado de la técnica.

También forma parte de la invención un procedimiento para la preparación del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) como se define anteriormente que además comprende una etapa adicional de cristalización del compuesto de fórmula (I) para obtener una forma sólida cristalina.

10

La cristalización es un procedimiento de formación de cristales sólidos a partir de una solución homogénea que implica una técnica química de separación sólido-líquido en la que se produce transferencia de masa de un soluto de la solución líquida a una fase sólida cristalina pura. El término "cristal" o "sólido cristalino" o "forma sólida cristalina" es un material sólido cuyos constituyentes están organizados en una estructura microscópica muy ordenada formando una red cristalina que se extiende en todas direcciones. Además, los cristales individuales macroscópicos suelen ser identificables por su forma geométrica, que consiste en caras planas con orientaciones características específicas.

15

La preparación de la forma sólida cristalina del compuesto de fórmula (I) se puede llevar a cabo por cualquier técnica conocida en el estado de la técnica. Por ejemplo, por la formación de una solución de disolvente que contiene el compuesto de fórmula (I) y la inducción de la precipitación de la forma sólida cristalina del compuesto de fórmula (I) por enfriamiento, mediante la adición de un antidisolvente o por siembra del compuesto de fórmula (I).

20

La selección de las condiciones de cristalización es esencial para determinar la forma sólida cristalina del compuesto de fórmula (I) y sus características físicas y químicas.

25

En una realización de la invención, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, el procedimiento comprende cristalizar el crudo del compuesto de fórmula (I) en una mezcla de un alcohol (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) y agua; preferiblemente, el alcohol (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) es etanol. En una realización de la invención, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, el procedimiento comprende cristalizar el crudo del compuesto de fórmula (I) en una mezcla de un alcohol (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) y agua, en donde la mezcla comprende el 83 % en volumen de etanol y el 17 % en volumen de agua. En el contexto de la invención, el término "% en volumen" se refiere al porcentaje de volumen de cada disolvente (es decir, etanol y agua) necesario para promover la preparación de la forma cristalina A del compuesto de fórmula (I). En estas condiciones, la forma cristalina obtenida es la forma cristalina A. La forma cristalina A se puede obtener directamente a partir del medio de reacción en las condiciones especificadas anteriormente o llevando a cabo una recristalización en tales condiciones.

30

35

El segundo aspecto de la invención es una forma sólida cristalina A del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) de la presente invención que presenta un punto de fusión de 131,5 °C.

40

Como se describe en los ejemplos, el espectro de RMN de <sup>1</sup>H, el espectro de RMN de <sup>13</sup>C, la espectroscopía de masas y el análisis elemental de la forma sólida cristalina A del compuesto de fórmula (I) de la presente invención corresponde al compuesto 25 descrito en la solicitud de patente europea número EP2766342.

La forma sólida cristalina A del compuesto de fórmula (I) es la que muestra en la calorimetría diferencial de barrido (DSC) un fenómeno endotérmico con un pico a 132,42 °C que tiene un calor asociado de 80,37 J/g. La forma sólida cristalina A es la que tiene el diagrama de calorimetría diferencial de barrido mostrado en la FIG. 1. Esta curva difiere de la curva de las formas sólidas cristalinas del compuesto de fórmula (I) conocidas en el estado de la técnica.

45

La forma sólida cristalina A del compuesto de fórmula (I) muestra también un espectro infrarrojo que comprende picos característicos a 3477, 3430, 3416, 3371, 3299, 3084, 2925, 1649, 1615, 1596, 1519, 1503, 1483, 1316, 1123, 1107, 1033, 850, 764. La forma sólida cristalina A es la que tiene el espectro infrarrojo mostrado en la FIG. 2. Este espectro difiere del espectro de la forma sólida cristalina del compuesto de fórmula (I) conocida en el estado de la técnica.

50

En una realización de la invención, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, la forma sólida cristalina A del compuesto de fórmula (I) se puede definir por su procedimiento de preparación como se define anteriormente y, por lo tanto, la forma sólida

55

5 cristalina A del compuesto de fórmula (I) obtenible por el procedimiento de la invención se considera parte de la invención. Por tanto, la forma sólida cristalina A del compuesto de fórmula (I) obtenible por el procedimiento que comprende hacer reaccionar una sal de un compuesto de fórmula (II) o una mezcla de la sal del compuesto de fórmula (II) y un compuesto de fórmula (II) con un compuesto cianamida de fórmula (III) en presencia de un disolvente orgánico polar, opcionalmente seguido de una etapa adicional de recristalización del compuesto de fórmula (I). Para los fines de la invención, las expresiones "obtenible", "obtenido/a" y expresiones equivalentes se usan indistintamente y, en todo caso, la expresión "obtenible" engloba la expresión "obtenido/a".

10 El tercer aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectivo de una forma sólida cristalina A del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) de la presente invención, junto con uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

15 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente efectivo" se refiere a la cantidad del compuesto de fórmula (I) que, cuando se administra, es suficiente para evitar el desarrollo o aliviar en alguna medida uno o más de los síntomas de la enfermedad a la que se dirige. La dosis particular del compuesto de fórmula (I) administrada según la presente invención se determinará, por supuesto, por las circunstancias particulares del caso, incluido el compuesto administrado, la vía de administración, la condición en particular que se está tratando y consideraciones similares.

20 La expresión "excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables" se refiere a materiales, composiciones o vehículos farmacéuticamente aceptables. Cada componente debe ser farmacéuticamente aceptable en el sentido de que sean compatibles con los demás ingredientes de la composición farmacéutica. También deben ser adecuados para su uso en contacto con tejidos u órganos de seres humanos y animales, sin toxicidad excesiva, irritación, respuestas alérgicas, inmunogenicidad u otros problemas o complicaciones en consonancia con una relación de beneficios y riesgos razonable.

30 Las composiciones de la presente invención se pueden preparar según procedimientos bien conocidos en el estado de la técnica. Los excipientes y/o vehículos apropiados y sus cantidades pueden determinarse fácilmente por los expertos en la técnica según el tipo de formulación que se va a preparar.

El cuarto aspecto de la invención es la forma sólida cristalina A del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) de la presente invención para su uso como medicamento.

35 En una realización, opcionalmente en combinación con una o más características de las diversas realizaciones descritas anteriormente o más adelante, la forma sólida cristalina A del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) como se define anteriormente, es para su uso en el tratamiento de una condición mediada por proteínas celulares Rho-GTPasas, en particular por proteínas celulares Rac1.

40 Este aspecto también se podría formular como el uso de la composición farmacéutica como se define anteriormente para la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento de una condición mediada por proteínas celulares Rho-GTPasas, en particular por proteínas celulares Rac1. También se refiere a un método para la profilaxis y/o el tratamiento de un mamífero que padece o es susceptible de padecer una condición mediada por proteínas celulares Rho-GTPasas, en particular por proteínas celulares Rac1, el método comprende administrar a dicho mamífero una cantidad efectiva de la composición farmacéutica de la presente invención.

50 A lo largo de la presente memoria descriptiva, el término "tratamiento" significa la eliminación, la disminución o la mejoría de la causa, los efectos o la progresión de una condición; e incluye una disminución de la velocidad de progresión, una interrupción de la velocidad de progresión, una mejora de la condición y la cura de la condición. También se incluye el tratamiento como medida profiláctica (por ejemplo, la profilaxis). El término "tratamiento" incluye tratamientos y terapias combinados, en los que se combinan dos o más tratamientos o terapias, por ejemplo, secuencialmente o simultáneamente. Ejemplos de tratamientos y terapias incluyen, pero sin limitación, quimioterapia (la administración de agentes activos, incluidos, por ejemplo, fármacos, anticuerpos como en la inmunoterapia), profármacos (por ejemplo, como en la terapia fotodinámica, GDEPT, ADEPT, etc.); intervenciones quirúrgicas; radioterapia y tratamiento génico. Para los fines de la presente invención, el tratamiento incluye, pero sin limitación, el alivio, la mejora o la eliminación de uno o más síntomas de la condición; la disminución del alcance de la condición; el estado estabilizado (es decir, que no empeora) de la condición; el retardo o la ralentización de la progresión de la condición; la mejora o la paliación del estado de la condición; y la remisión de la condición (ya sea parcial o total).

60 El compuesto de fórmula (I) de la invención es un inhibidor de proteínas celulares Rho-GTPasas, más específicamente, de la proteína celular Rac1, que es útil para el tratamiento de una condición mediada por una proteína celular Rho-GTPasa, preferiblemente, una condición mediada por la proteína celular Rac1.

Tal como se usa en el presente documento, el término "una enfermedad mediada por la proteína celular Rac1" se refiere a una condición en la que la proteína celular Rac1 y/o la acción de Rac1 es importante o necesaria, por ejemplo, para la aparición, la progresión, la expresión, etc. de esa condición.

5 Dado que se sabe que las quinasas Rho-GTPasas tienen un papel esencial en el ciclo celular, y en particular Rac1, en una realización preferida de la presente invención las enfermedades, condiciones y/o desórdenes que se pueden evitar, mejorar o tratar con los compuestos de la presente invención son enfermedades proliferativas. Se considera que una enfermedad se beneficia de la reducción de la actividad Rho-GTPasa, en particular de la actividad de Rac1, si una disminución de la actividad de Rac1 de al menos el 10 %, preferiblemente de al menos el 20 %, preferiblemente de al menos el 30 %, da lugar a una mejora de al menos un indicador clínico de la enfermedad. Son ejemplos de dichos indicadores la velocidad de proliferación, que preferiblemente se reduce, la diferenciación celular, que preferiblemente se induce, etc.

Es más preferido que las enfermedades proliferativas se seleccionen del grupo que consiste en lesiones precancerosas; displasia; metaplasia; carcinomas del tracto gastrointestinal o colorrectal, hígado, páncreas, riñón, vejiga, próstata, endometrio, ovario, testículos, melanoma, mucosa bucal displásica, cánceres bucales invasivos, carcinomas de pulmón de célula pequeña y de célula no pequeña, cánceres de mama hormonodependientes, cánceres de mama no hormonodependientes, cánceres transitorios y de células escamosas, malignidades neurológicas incluyendo neuroblastoma, gliomas, glioblastoma, astrocitomas, osteosarcomas, sarcomas de tejidos blandos, hemangiomas, tumores endocrinos, neoplasias hematológicas incluyendo leucemias, linfomas y otras enfermedades mieloproliferativas y linfoproliferativas, carcinomas in situ, lesiones hiperplásicas, adenomas, fibromas, histiocitosis, enfermedades proliferativas inflamatorias crónicas, enfermedades proliferativas vasculares y enfermedades proliferativas inducida por virus, enfermedades de la piel caracterizadas por la hiperproliferación de queratinocitos y/o linfocitos T. Enfermedades tratables con los compuestos de la presente invención particularmente preferidas son glioblastoma; y los adenocarcinomas y carcinomas gástricos, prostáticos, ováricos y colorrectales y más preferiblemente, los adenocarcinomas invasivos.

Por tanto, la presente invención proporciona también compuestos activos que son agentes antiproliferativos. Tal como se usa en el presente documento, el término "agente antiproliferativo" se refiere a un compuesto que trata una condición proliferativa (es decir, un compuesto que es útil en el tratamiento de una condición proliferativa).

El sujeto puede ser un eucariota, un animal, un animal vertebrado, un mamífero, un roedor (por ejemplo, una cobaya, un hámster, una rata, un ratón), murino (por ejemplo, un ratón), canino (por ejemplo, un perro), felino (por ejemplo, un gato), equino (por ejemplo, un caballo), un primate, simio (por ejemplo, un mono o un simio superior), un mono (por ejemplo, tití, babuino), un simio superior (por ejemplo, gorila, chimpancé, orangután, gibón) o un ser humano. Preferiblemente, el sujeto es un ser humano.

El tratamiento definido anteriormente en el presente documento se puede aplicar como tratamiento único o puede conllevar, además del compuesto de fórmula (I) de la invención, una intervención quirúrgica convencional o radioterapia o quimioterapia.

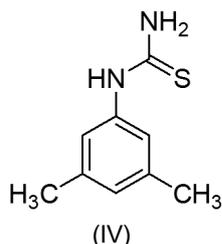
A lo largo de la descripción y las reivindicaciones, la palabra "comprende" y las variaciones de la palabra, no están destinadas a excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o etapas. Otros objetivos, ventajas y características de la invención resultarán evidentes para los expertos en la técnica al examinar la descripción o se pueden aprender con la puesta en práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración y no se pretende que limiten la presente invención.

### Ejemplos

50 Todos los reactivos estaban disponibles comercialmente. Los puntos de fusión se determinaron con un Buchi modelo B-545. Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se registraron en un espectrómetro VNMRS-500 de Varian. El análisis elemental se registró en un CHNS-932 de LECO. Los espectros de masas se registraron en DVL de CL/EM de Agilent Technologies con la técnica API-ES (ionización a presión atmosférica-electropulverización) en modo positivo. Los espectros IR se registraron en un Spectrum One FT-IT con discos de bromuro de potasio (2 mg/300 mg). Los espectros de DSC se registraron en un mod. q20 de TA Instruments. Para las medidas de DSC es necesario incluir las muestras (1 g y 1,5 g) en un recipiente de aluminio que después se sella y se calienta desde 40 °C hasta 250 °C a una velocidad de 10 °C/min.

Ejemplo 1: forma sólida cristalina A del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I)

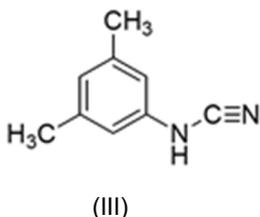
60 Etapas A. Preparación de 3,5-dimetilfenil tiourea de fórmula (IV)



A una mezcla de 3,5-dimetil anilina (V) (Aldrich) (194 g) y agua (800 ml) con agitación, se le añadió lentamente HCl (192 g) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla resultante durante 15 minutos. Después, se añadió tiocianato de amonio (VI) (Biopack) (134 g) a temperatura ambiente. Se calentó la mezcla resultante a 96 °C durante 15 horas con agitación. Después de ese tiempo, se enfrió la mezcla con agitación hasta los 25 °C y se mantuvo a una temperatura de entre 20 °C y 25 °C con agitación durante la noche. Se filtró a vacío el precipitado obtenido, se aclaró con agua y se secó para obtener el crudo de la 3,5-dimetilfenil tiourea de fórmula (IV) (235 g).

Se disolvió el crudo del compuesto de fórmula (IV) en etanol caliente (al 96 %, 1,4 l) y a la mezcla resultante se le añadió tolueno caliente (450 ml). Se agitó el precipitado durante la noche a 25 °C. Después de ese tiempo, se filtró el precipitado, se aclaró con etanol frío (al 96 %) y se secó con aire seguido de vacío para obtener el compuesto de fórmula (IV) como una forma sólida cristalina (156 g; p.f. 170-172 °C).

Etapa B. Preparación de 3,5-dimetilfenilcianamida de fórmula (III)

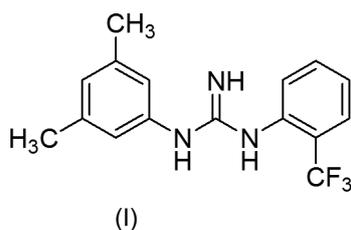


Se prepararon las soluciones A-C: Se preparó la solución A por disolución de 3,5-dimetilfenil tiourea de fórmula (IV) (72 g; 0,4 mol) en agua (300 ml). Se preparó la solución B por disolución de KOH (224 g) en agua (600 ml). Se preparó la solución C por disolución  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (167 g) en agua (200 ml). Después, se almacenaron las soluciones A-C a 95 °C con agitación.

A la solución A, se añadió la solución B a 95 °C con agitación, seguido inmediatamente de la adición de la solución C a 95 °C con agitación. Se formó un precipitado y se calentó la mezcla resultante a temperatura de reflujo durante 2 minutos. Después de ese tiempo, se enfrió la mezcla a 0 °C. Se filtró la mezcla, se acidificó por la adición de ácido acético (260 ml) y se aclaró con agua fría (x6 partes). Después, se filtró la mezcla y se secó a vacío para obtener el compuesto de fórmula (III) (53 g).

Se disolvió el compuesto de fórmula (III) en tolueno caliente (200 ml). Después, se añadió carbón activado y se filtró la mezcla resultante a través de un lecho de Dicalite precalentado. Después de eso, se añadieron 60 ml de n-hexano caliente, se enfrió la mezcla y se cristalizó a 0 °C. Se secaron los cristales con aire, seguido de vacío para obtener el compuesto de fórmula (III) como una forma sólida cristalina blanca (34 g; rendimiento del 58 %, p.f. 118-120 °C).

Etapa C. Preparación de la forma sólida cristalina A de N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I)



A una mezcla del clorhidrato de 2-trifluorometilnilina de fórmula (II-HCl) (Aldrich) (15 g, 0,076 mol) y 2-trifluorometilnilina de fórmula (II) (6 g, 0,037 mol) (Aldrich) en etanol absoluto (145 ml) y agua (30 ml), se le añadió 3,5-dimetilfenilcianamida de fórmula (III) (3 g, 0,0163). Se calentó la mezcla resultante hasta 60 °C con agitación y se añadió 3,5-dimetilfenilcianamida de fórmula (III) (10,2 g, 0,0556) lentamente durante 1 hora a 60 °C con agitación.

5

Se calentó la mezcla resultante a 70 °C durante 1 hora. Después de ese tiempo, se enfrió la mezcla a 15 °C y se añadió NaOH 1 N (aprox. 71 g) con agitación hasta alcanzar un pH 9,0. Se almacenó la mezcla con el compuesto de fórmula (I) a 0 °C durante 15 horas. Se filtró el sólido y se secó para obtener el compuesto crudo cristalino de fórmula (I) (4,8g; rendimiento del 21 %, HPLC  $\geq$ 98 %).

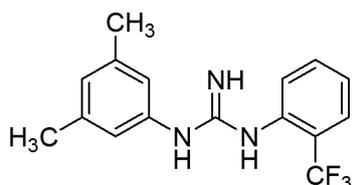
10

Se recrystalizó el compuesto crudo cristalino de fórmula (I) en una mezcla de etanol y agua para obtener el compuesto de fórmula (I) como una forma sólida cristalina A blanca.

RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,61 (d, J= 6,8 Hz, 1H), 7,44-7,41 (m, 1H), 7,07-7,04 (m, 2H), 6,81 (s, 2H), 6,73 (s, 1H), 4,31 (s. a., 2H), 2,25 (s, 6H). RMN de  $^{13}\text{C}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 149,3, 147,7, 139,0, 132,8, 126,8 (q, J= 5,3 Hz), 125,8, 125,2 124,3 (c, J= 273 Hz), 123,8 (c, J= 28,7 Hz), 122,0, 120,2, 21,2. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3477, 3430, 3416, 3371, 3299, 3084, 2925, 1649, 1615, 1596, 1519, 1503, 1483, 1316, 1123, 1107, 1033, 850, 764. EM (u.m.a.)  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 308$ . Anal. calc. para  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_3$ : %C, 62,53; %H, 5,25; %N, 13,67. hallado: %C, 62,36; %H, 5,06; %N, 13,71. p.f.: 131,6-131,7 °C. DSC ( $T_{\text{onset}}$ ) = 132,42 °C.

20

Ejemplo 2. Forma sólida cristalina comparativa del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I)



25

Se preparó la forma sólida comparativa del compuesto de fórmula (I) siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 1 para el compuesto 25 de la solicitud de patente europea EP2766342. Este procedimiento comprende hacer reaccionar cantidades equimolares de una solución de clorhidrato de 3,5-dimetilnilina y N-(2-trifluorometil)fenilcianamida en etanol absoluto a una temperatura de reflujo de 15 h. Se añadió una solución acuosa de NaOH hasta alcanzar un pH 9. Se extrajo la mezcla con diclorometano. Se secaron las fases orgánicas con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se filtraron. Se evaporó el disolvente para obtener el crudo del compuesto de fórmula (I) en forma sólida. Se purificó el crudo de la forma por cromatografía en columna con un gradiente de hexano:acetato de etilo en presencia de trietilamina para obtener la forma sólida pura del compuesto de fórmula (I).

35

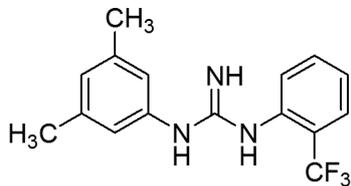
RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,61 (d, J= 6,8 Hz, 1H), 7,44-7,41 (m, 1H), 7,07-7,04 (m, 2H), 6,81 (s, 2H), 6,73 (s, 1H), 4,32 (s. a., 2H), 2,25 (s, 6H). IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3486, 3382, 3278, 3228, 3060, 2917, 1651, 1597, 1562, 1483, 1454, 1370, 1320, 1251, 1167, 1117, 1033, 841, 757 (mostrado en la FIG. 4). EM (u.m.a.)  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 308$ . Anal. calc. para  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_3$ : %C, 62,53; %H, 5,25; %N, 13,67. hallado: %C, 62,51; %H, 5,08; %N, 13,63. p.f.: 129,4-129,5 °C. DSC ( $T_{\text{inicio}}$ ) = 128,78 °C (mostrado en la FIG. 3).

40

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I),

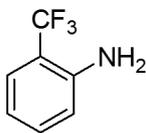
5



(I)

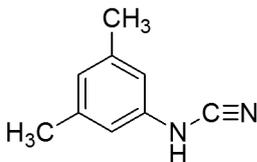
que comprende hacer reaccionar una sal de un compuesto de fórmula (II) o una mezcla de la sal del compuesto de fórmula (II) y un compuesto de fórmula (II)

10



(II)

15 con un compuesto cianamida de fórmula (III),



(III)

20 en presencia de un disolvente orgánico polar.

2. El procedimiento según la reivindicación 1, en donde el procedimiento se lleva a cabo al hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) y una sal de un compuesto de fórmula (II) con un compuesto cianamida de fórmula (III).

25 3. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde la sal del compuesto de fórmula (II) es la sal clorhidrato del compuesto de fórmula (II).

4. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el disolvente orgánico polar es un alcohol (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>).

30 5. El procedimiento según la reivindicación 4, en donde el alcohol (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) es etanol.

6. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la reacción se lleva a cabo a una temperatura comprendida desde 60°C hasta 75°C.

35 7. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que además comprende una etapa adicional de cristalización del compuesto de fórmula (I).

8. El procedimiento según la reivindicación 7, en donde la cristalización se lleva a cabo en presencia de una mezcla de alcohol (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) y agua.

40

9. Forma sólida cristalina A del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) que presenta un punto de fusión de 131,5 °C.

10. La forma sólida cristalina A de fórmula (I) según la reivindicación 9, que presenta una DSC de 132,4 °C.

45

11. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de la forma sólida cristalina del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) como se define en cualquiera de las reivindicaciones 9-10, junto con uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

5 12. La forma sólida cristalina A del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) como se define en cualquiera de las reivindicaciones 9-10, para su uso como medicamento.

10 13. La forma sólida cristalina A del compuesto N-(3,5-dimetilfenil)-N'-(2-trifluorometilfenil) guanidina de fórmula (I) como se define en cualquiera de las reivindicaciones 9-10, para su uso en el tratamiento de una condición mediada por proteínas celulares Rho-GTPasas.

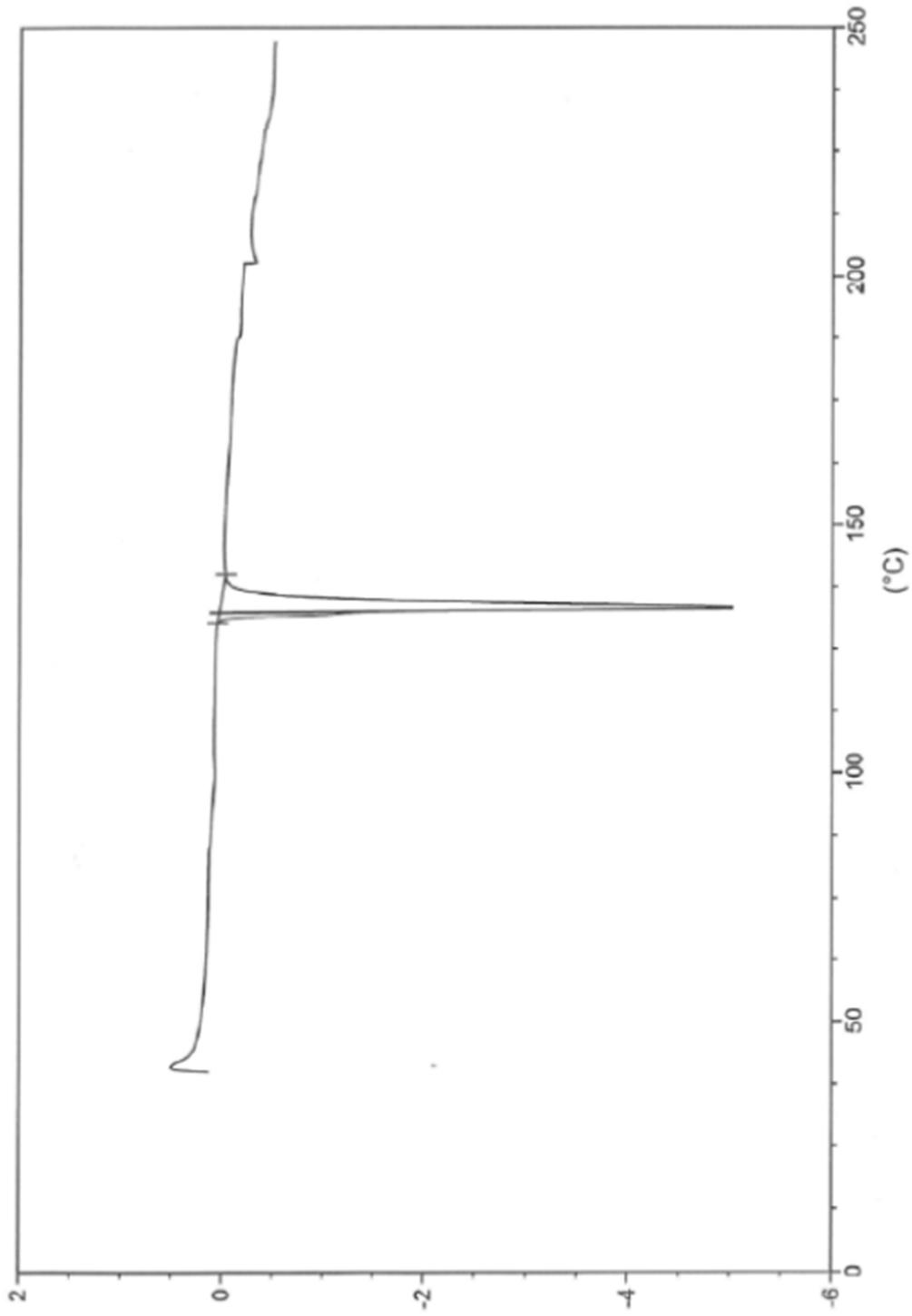


FIG. 1

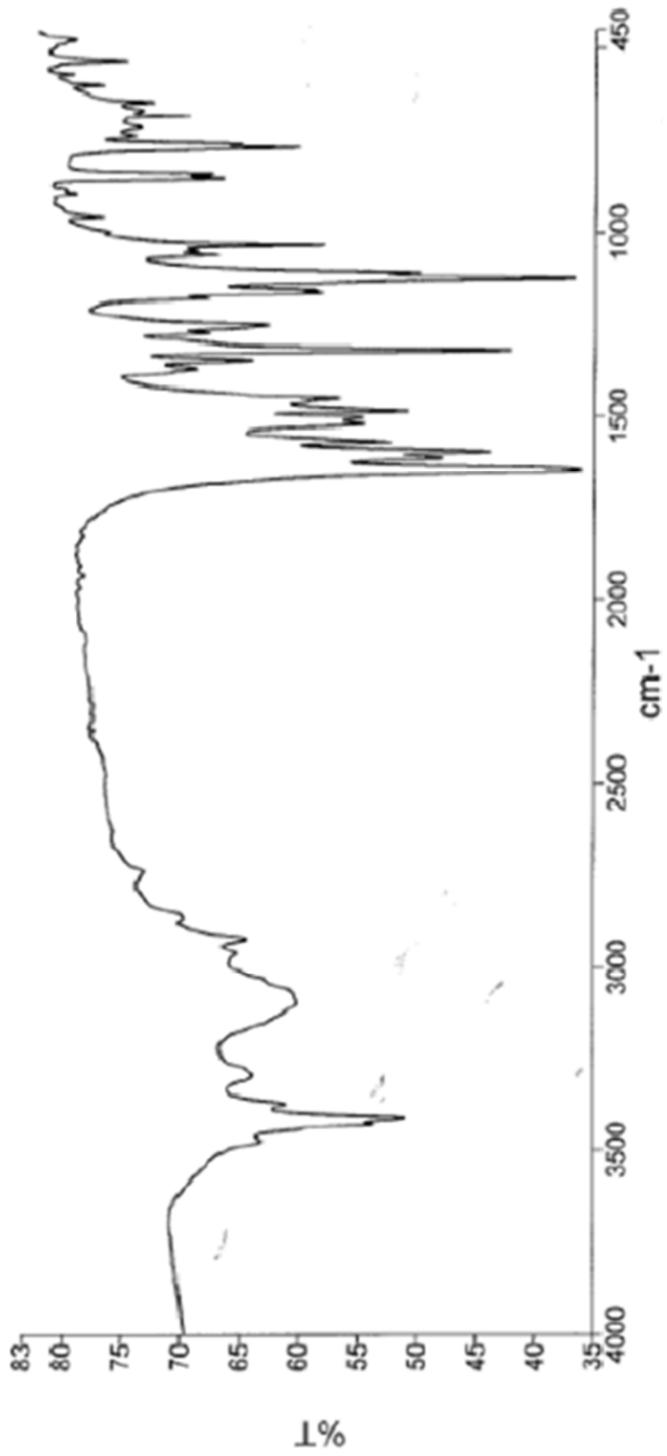


FIG. 2

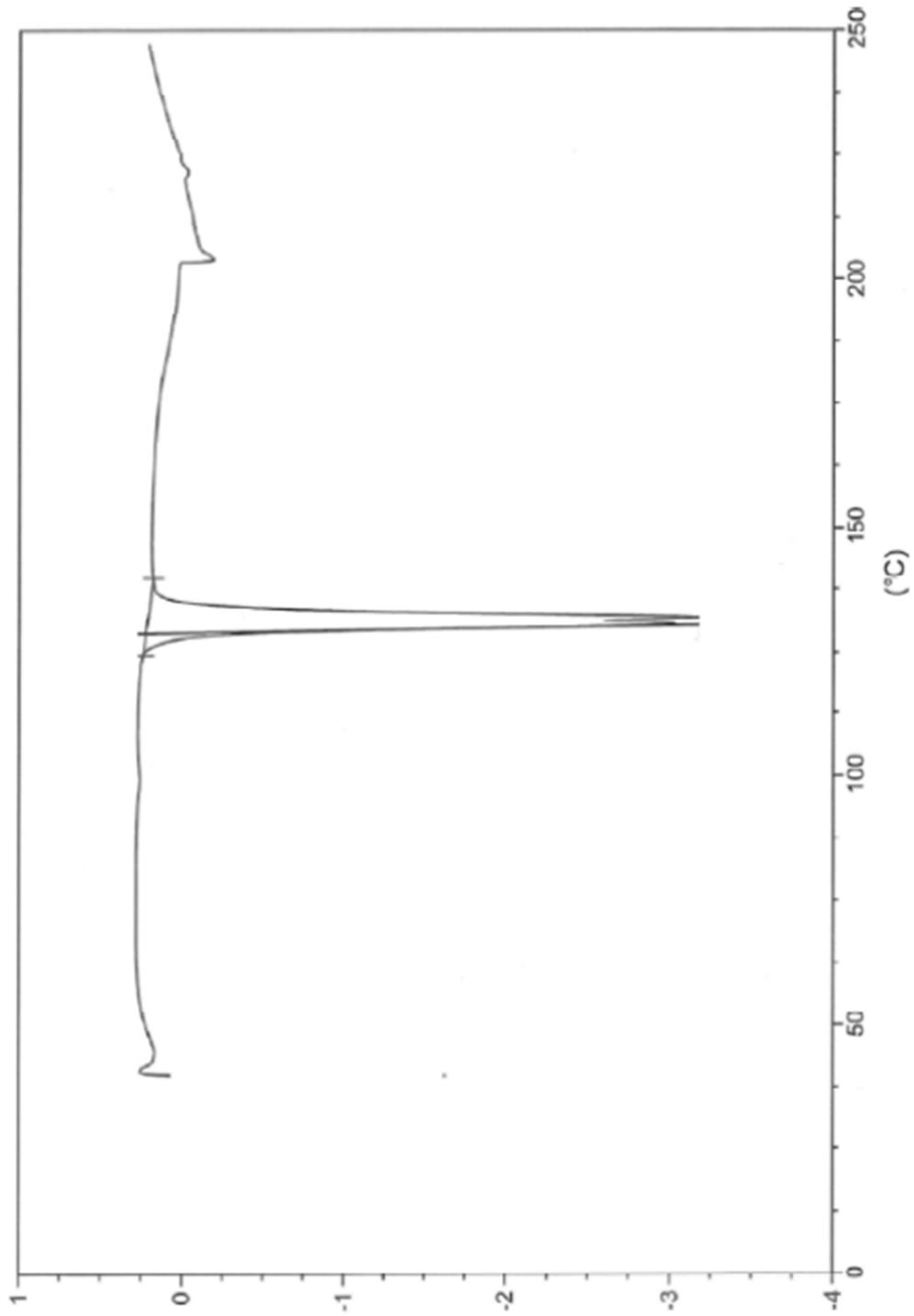


FIG. 3

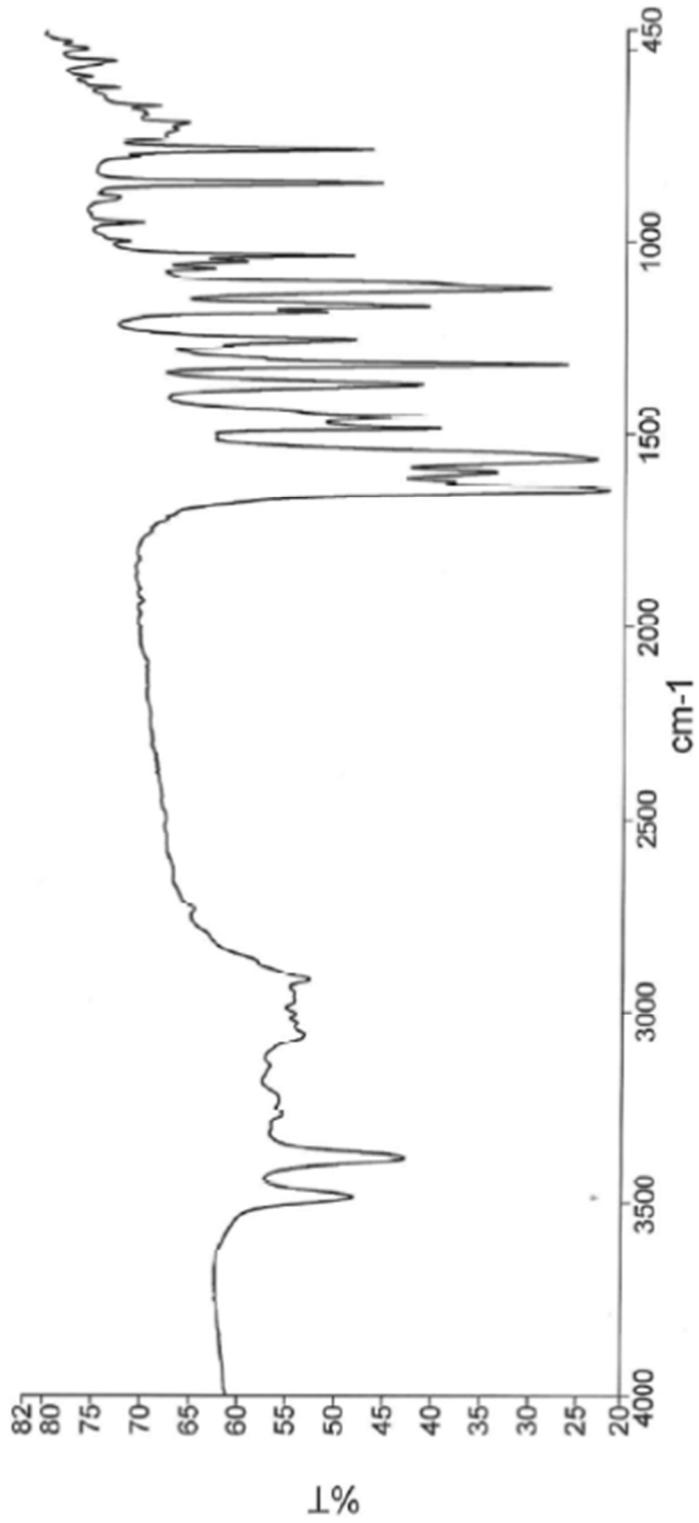


FIG. 4